

Amélioration du procédé de maltage pour la production du *bili bili*, boisson traditionnelle à base du sorgho au Nord Cameroun

[Improvement of the malting process for the production of *bili bili*, a traditional drink made from sorghum in Northern Cameroon]

TOUWANG Charles^{1,2}, S. C. Zangué Desobgo², NSO Emmanuel Jong², and Robert NDJOUENKEU²

¹Ecole nationale Supérieure Polytechnique de Maroua, Bp 58 Université de Maroua, Cameroon

²Ecole Nationale des Sciences Agro-Industrielles de Ngaoundéré Bp 54 Université de Ngaoundéré, Cameroon

Copyright © 2024 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: In a view of improvement of *bili-bili* quality, a traditional fermented drink made from sorghum from the savannahs of Northern Cameroon, the optimization of malting conditions in order to obtain a malt with better technological potential was studied by the response surface method. A composite plan centered on three factors whose levels were chosen according to the traditional conditions of production of *bili-bili*, grain soaking time (24-48 hours), germination time (48-96 hours) and aging time (24–72 hours) allows to define the optimal conditions of improving α and β amylase activities, soluble proteins and free amino acids. It appears that the linear and quadratic contributions of the soaking time have a significant effect ($P < 0.05$) on the different responses, except for free amino acids and the germination duration significantly influences ($P < 0.05$) the α and β amylase activities as well as soluble proteins. The duration of aging has a significant influence ($P < 0.05$) on all responses. The desirability function shows that the optimal malting conditions are 36h, 72h and 48h for the soaking, germination and aging times respectively. At this point, the α and β amylase activities, soluble proteins and free amino acids are respectively 9.34 ± 1.06 meqg/100gDM; 15.97 ± 1.06 meqg/100gDM; $2.05 \pm 0.22\%$ and 377.67 ± 6.02 mg/L. Comparing these values with predicted ones by the model does not show a significant difference, thus concluding that the models fit well. In a context of revival interest in promoting of local products and food systems, this work has had the merit of meeting some of the expectations of the main actors of this technical system.

KEYWORDS: *Bili-bili*, malting, optimization, technological quality, North Cameroon.

RESUME: Dans l'optique d'une amélioration de la qualité du « bili-bili », boisson fermentée traditionnelle à base de sorgho des savanes du Nord Cameroun, l'optimisation des conditions de maltage en vue d'obtenir un malt avec un meilleur potentiel technologique a été étudiée par la méthode de surface de réponse. Un plan composite centré à trois facteurs dont les niveaux ont été choisis en fonction des conditions traditionnelles de production du « bili-bili », temps de trempage des grains (24-48h), temps de germination (48-96h) et temps de maturation (24 – 72h) permet de définir les conditions optimales d'amélioration des activités α et β amylasiques, des protéines solubles et des acides aminés libres. Il ressort que les contributions linéaires et quadratiques du temps de trempage ont un effet significatif ($P < 0,05$) sur les différentes réponses à l'exception des acides aminés libres et la durée de germination influence significativement ($P < 0,05$) les activités α et β amylasique ainsi que les protéines solubles. La durée de maturation quant à elle a une influence significative ($P < 0,05$) sur toutes les réponses. La fonction de désirabilité montre que les conditions optimales de maltage sont de 36h, 72h et 48h pour les durées de trempage, germination et maturation respectivement. A ce point, les activités α et β amylasiques, les protéines solubles et les acides aminés libres sont respectivement de $9,34 \pm 1,06$ méqg/100gmaltsec; $15,97 \pm 1,06$ méqg/100gmaltsec; $2,05 \pm 0,22\%$ et $377,67 \pm 6,02$ mg/L. La comparaison de ces valeurs avec celles prédites par le modèle ne montre pas de différence significative, concluant ainsi à un bon ajustement des modèles. Dans un contexte de regain d'intérêt pour la valorisation des produits et des

systèmes alimentaires locaux, ce travail aura eu le mérite de répondre à quelques-unes des attentes des principaux acteurs de ce système technique.

MOTS-CLEFS: *Bili-bili*, maltage, optimisation, qualité technologique, Nord-Cameroun.

1 INTRODUCTION

Dans la partie septentrionale du Cameroun, la production du *bili-bili* est l'une des activités phares des femmes non islamisées, sous scolarisées et parfois très affaiblies par des charges supérieures à leurs capacités financières. Le développement de ce secteur de production trouve ses motivations dans son caractère générateur de revenu et d'emplois connexes. Cette boisson requiert pour sa fabrication trois étapes principales que sont le maltage, le brassage et la fermentation. Le maltage est une activité de transformation largement artisanale, généralement pratiquée à domicile et impliquant un grand savoir-faire. Il est caractérisé par les opérations de trempage, de lavage et égouttage, de germination et de séchage précédé d'une maturation du malt vert. C'est une étape critique par rapport à son rôle dans la construction de la qualité du *bili-bili*. Elle doit permettre une désagrégation du grain par les enzymes hydrolytiques générées pendant la germination afin de produire à la fin du brassage un moût riche en principes fermentescibles [1] - [2]. Comment combiner ces différents facteurs afin de produire un malt de qualités technologiques améliorées ? Au Cameroun, Les pratiques techniques de production du *bili-bili* en général et de maltage en particulier suivent une trajectoire Nord – Sud, du Lac Tchad vers l'Adamaoua suite aux migrations des acteurs de production et intègre des différenciations justifiées par l'adaptation des pratiques techniques disponibles dans les différents territoires traversés [3]. La grande variabilité des conditions de production conduit à des malts de qualité technologique incertaine et par conséquent à des bières présentant des caractéristiques physicochimiques variables [4]. L'objectif de cette étude est de déterminer les conditions optimales de trempage, de germination et de maturation du malt de sorgho rouge (djigari) pour la production du *bili-bili*.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Dispositif expérimental, modélisation, validation du model et optimisation :

L'approche méthodologique utilisant les surfaces de réponses a été choisie dans le but d'étudier l'influence des durées de trempage (X_1), de germination (X_2) et de maturation (X_3) sur le potentiel brassicole du malt de sorgho rouge. A cet effet un plan composite centré à trois facteurs a été généré à l'aide du logiciel Statgraphics 5.0. Les niveaux des variables ont été choisis sur la base des conditions de maltage traditionnelles appliquées dans les différentes régions traversées par le système technique [3]. Le plan a été exécuté en un bloc et l'ordre des expériences a été complètement randomisé.

Chaque facteur prend les cinq niveaux suivants en variables codées: $+\alpha$ (valeur étoilée élevée), $+1$ (valeur élevée), 0 (valeur au centre), -1 (valeur basse), $-\alpha$ (valeur étoilée basse). La valeur de α a été choisie de sorte à assurer la propriété de presque orthogonalité du plan [5]. Dans le cas du plan à trois facteurs $\alpha = 1,353$.

La matrice d'expériences résultante est composée de 17 essais ayant 8 expériences factorielles, 6 points en étoile et 3 points au centre (**Tableau 1**). Les réponses ont été exprimées en fonction des facteurs en valeurs codées sous forme de polynômes de second degré suivant l'équation (1)

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 \quad (1)$$

Y étant la réponse, b_0 la valeur de la réponse au centre du domaine, b_1 , b_2 et b_3 les effets principaux des facteurs durée de trempage (X_1), durée de germination (X_2) et durée de maturation (X_3), b_{11} , b_{22} et b_{33} les effets quadratiques des facteurs (X_1 , X_2 , X_3) et b_{12} , b_{13} , b_{23} les effets d'interactions entre les facteurs (X_1 , X_2 , X_3).

La significativité des effets a été déterminée à partir de l'analyse de variance (ANOVA) sur chaque réponse. Tous les effets dont le niveau de probabilité a été inférieur à 5% ont été considérés comme significatifs. L'évaluation de la qualité de l'ajustement des modèles a été faite à partir de l'analyse des coefficients de détermination de la régression multilinéaire (R^2), du coefficient de régression ajusté (R_A^2) et de la valeur de la probabilité (p-value). En effet plus R^2 et R_A^2 sont proche de l'unité, meilleur est l'ajustement du modèle [6]. En outre, afin de visualiser les effets des différents facteurs sur les réponses, les courbes de surface ont été tracées à l'aide du logiciel Sigma plot 12.

2.2 ANALYSES PHYSICO CHIMIQUES

La qualité technologique des différents malts obtenus a été appréciée à travers, les activités amylasiques α et β , les teneurs en protéines solubles et en azote aminé libre déterminés selon les méthodes décrites au chapitre précédent. Chaque analyse a été réalisée en trois répétitions et le résultat présenté sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type. Les activités α et β amylasiques ont été déterminées par la méthode [7], modifiée par [8] après extraction des enzymes avec une solution de CaCl_2 (3,3 g/l) et inactivation de la β -amylase à 68 °C pendant 15 min. L'activité β -amylasique est déduite par la différence entre le pouvoir diastasique au CaCl_2 et l'activité amylasique. La teneur en protéines soluble a été obtenue par la Méthode [9] Devani *et al*, (1989) et les acides aminés libres par la méthode à la ninhydrine [10].

2.3 OPTIMISATION ET DETERMINATION DES MODELES MATHEMATIQUES

Après avoir généré les modèles mathématiques qui expriment les réponses en fonction des facteurs, la procédure d'optimisation multi réponses a été exécutée et a permis de déterminer les coordonnées d'un point de compromis par la superposition des courbes isoréponses de chaque réponse.

2.4 VALIDATION DES MODÈLES MATHÉMATIQUES

Les valeurs R^2 et de l'Analyse Absolue de Déviation Moyenne (AADM) permettent de vérifier l'exactitude du modèle. R^2 doit être proche de 1 et l'AADM entre les données prévues et observées doit être aussi petit que possible [11]. Les valeurs acceptables de R^2 et les valeurs de l'AADM signifient que l'équation du modèle définit le comportement vrai du système et elle peut être employée pour l'extrapolation dans le domaine expérimental.

La vérification de l'adéquation des modèles par les points tests a consisté à mener l'expérimentation dans les conditions optimales prédites par les modèles, puis à comparer les valeurs moyennes expérimentales aux valeurs prédites par le biais d'un test statistique t de Student de comparaison de moyenne. Les paramètres qui traduisent l'exactitude du modèle, à savoir le coefficient de détermination (R^2) l'Analyse Absolue de la Déviation Moyenne (AADM), le facteur de biais (B_f) et le facteur d'exactitude (A_f) ont été calculés par les formules proposées par [12] - [11] - [13] (Equations 2, 3, 4 et 5). Le modèle prédictif est acceptable ou parfait dans les conditions mentionnées dans le tableau 2.

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (Y_{ical} - \bar{Y})^2}{\sum_{i=1}^N (Y_{iexp} - \bar{Y})^2} \quad (2)$$

$$AADM = \frac{\left[\sum_{i=1}^N \left(\frac{Y_{iexp} - Y_{ical}}{Y_{iexp}} \right) \right]}{P} \quad (3)$$

$$B_f = 10^{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \log \left(\frac{Y_{ical}}{Y_{iexp}} \right)} \quad (4)$$

$$A_f = 10^{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \left| \log \left(\frac{Y_{ical}}{Y_{iexp}} \right) \right|} \quad (5)$$

Y exp: Réponse expérimentale, Ycal: réponse calculée à partir du modèle, N: Nombre d'expériences (N=17), \bar{Y} : Moyenne des réponses expérimentales

Les contributions linéaires, quadratiques et des interactions des différents facteurs ont été obtenues suivant les équations 6, 7 et 8

- Contribution linéaire

$$Contribution (\%) = \frac{|b_i|}{\sum_{i=1}^k |b_i| + \sum_{i=1}^k |b_{ii}| + \sum_{i < j} |b_{ij}|} \quad (6)$$

- Contribution quadratique

$$Contribution (\%) = \frac{|bij|}{\sum_{i=1}^k |bi| + \sum_{i=1}^k |bii| + \sum_{i<j}^k |bij|} \tag{7}$$

- Contribution interaction

$$Contribution (\%) = \frac{|bii|}{\sum_{i=1}^k |bi| + \sum_{i=1}^k |bii| + \sum_{i<j}^k |bij|} \tag{8}$$

Dans le but d’optimiser les activités α et β amylase, des taux en protéines solubles et en acides aminés libres, le choix des bornes des différentes réponses a été guidé par le cahier de charge de la « European Brewery Convention » (EBC) pour la production de malts en brasserie. L’utilisation du logiciel Sigmaplot version 12.1 (Systat Software, Inc., 1735 Technology Drive, Suite 430, San Jose, CA 95110, USA) a permis de ressortir les courbes linéaires, de surface et de contour ainsi que leur superposition pour la détermination de la zone optimale des différentes réponses.

Tableau 1. Matrice d’expériences et des différentes réponses

Valeurs codées			Valeurs réelles			Réponses											
Trempage (h)	Germination (h)	Maturation (h)	Trempage (h)	Germination (h)	Maturation (h)	Activité α du malt (mgeq/100gmalt)			Activité β du malt (mgeq/100gmalt)			Protéines solubles du malt (%)			Acides aminés libres du malt (mg/L)		
X_1	X_2	X_3	X_1	X_2	X_3	Y_{Exp}	Y_{cal}	Rés	Y_{Exp}	Y_{cal}	Rés	Y_{Exp}	Y_{cal}	Rés	Y_{Exp}	Y_{cal}	Rés
+1	-1	+1	48	48	72	2,73	6,42	3,69	6,93	11,30	-4,37	1,35	1,57	0,22	389,06	298,96	90,1
+1	-1	-1	48	48	24	5,48	6,48	-1	6,17	11,22	-5,05	1,44	1,52	0,08	319,16	296,47	22,69
-1	+1	+1	24	96	72	8,81	5,66	3,15	18,4	6,45	11,95	1,34	1,37	0,03	378,57	310,43	68,14
0	+1,353	0	36	104	48	7,86	6,48	1,38	15,15	9,06	6,09	1,77	1,57	0,2	351,95	306,13	45,82
+1,353	0	0	52	72	48	4,16	6,99	2,83	6,83	12,29	-5,46	1,68	1,71	0,03	381,22	298,42	82,8
0	0	0	36	72	48	9,04	6,08	2,96	15,18	8,87	6,31	2,06	1,44	0,62	367,06	303,45	63,61
0	0	-1,353	36	72	16	12,86	6,12	6,74	6,08	8,80	-2,72	1,99	1,40	0,59	293,09	301,76	-8,67
-1	-1	+1	24	48	72	8,21	5,06	3,15	9,44	6,14	3,3	0,78	1,17	0,39	315,65	306,35	9,3
+1	+1	-1	48	96	24	8,9	7,09	1,81	6,12	11,49	-5,37	1,58	1,71	0,13	307,74	300,36	7,38
-1	+1	-1	24	96	24	8,49	5,71	2,78	3,13	6,34	-3,21	1,54	1,31	0,23	340,28	308,12	32,16
0	0	0	36	72	48	10,34	6,08	4,26	16,71	8,87	7,84	2,01	1,44	0,57	360,57	303,45	57,12
0	0	+1,353	36	72	80	6,88	6,04	0,84	23,05	8,92	14,13	1,4	1,48	0,08	349,05	305,01	44,04
0	0	0	36	72	48	9,02	6,08	2,94	16,71	8,87	7,84	2,09	1,44	0,65	367,07	303,45	63,62
-1	-1	-1	24	48	24	7,53	5,11	2,42	18,4	6,06	12,34	1,02	1,11	0,09	348,09	304,08	44,01
0	-1,353	0	36	40	48	4,62	5,67	1,05	15,07	8,66	6,41	1,28	1,31	0,03	347,29	300,74	46,55
-1,353	0	0	20	72	48	7,23	4,83	2,4	9,09	5,16	3,93	1,34	1,07	0,27	364,74	306,62	58,12

X_1 : durée de trempage (h), X_2 : durée de germination (h), X_3 : durée de maturation (h), Y_{exp} : réponses expérimentales, Y_{cal} : réponses calculées, Rés: résidus

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 MODELISATION ET OPTIMISATION DES FACTEURS AFFECTANT LA QUALITE TECHNOLOGIQUE DU MALT

Les résultats de l’évaluation des paramètres technologiques (réponses retenues) des malts obtenus selon la matrice d’expérience sont représentés dans le tableau 1. L’analyse de variance multi variée a permis à partir de ces résultats expérimentaux de générer des modèles mathématiques polynomiaux de second degré avec interactions associés aux

différentes réponses en fonctions du temps de trempage (X_1) du temps de germination (X_2) et du temps de maturation (X_3) (équations 9, 10, 11, 12).

$$Y_{actalph} = 9,431 - 1,313X_1 + 0,601X_2 - 1,198X_3 - 2,016X_{12} + 0,487X_{1X2} - 0,985X_{1X3} - 0,834X_{22} + 0,217X_{2X3} + 0,263X_{32} \quad (9)$$

$$Y_{actb\beta} = 16,511 - 2,420X_1 - 0,712X_2 + 3,506X_3 - 4,888X_{12} + 0,538X_{1X2} + 0,663X_{1X3} - 0,961X_{22} + 4,291X_{2X3} - 1,281X_{32} \quad (10)$$

$$Y_{Protsol} = 2,091 + 0,113X_1 + 0,089X_2 - 0,149X_3 - 0,344X_{12} - 0,14X_{1X2} - 0,007X_{1X3} - 0,202X_{22} - 0,035X_{2X3} - 0,243X_{32} \quad (11)$$

$$Y_{AAL} = 362,64 + 2,027X_1 + 1,937X_2 + 18,160X_3 + 7,227X_{12} - 10,952X_{1X2} + 15,545X_{1X3} - 4,257X_{22} + 7,642X_{2X3} - 21,123X_{32} \quad (12)$$

Les valeurs de R^2 , AADM, B_f et A_f telles que présentées dans le tableau 2 ont permis de valider ces différents modèles mathématiques en accord avec les travaux de [12] - [14] - [13] - [15] - [11].

Tableau 2. Paramètres de validation des modèles

Modèles	Coefficient de détermination (R^2)	Analyse absolue de La déviation moyenne (AADM)	Facteur de biais (B_f)	Facteur d'exactitude (A_f)	R^2 ajusté	Test d'adéquation
$Y_{Actalph}$	0,92	0,052	0,870	1,178	0,83	0,3254 > P
$Y_{Actb\beta}$	0,93	0,013	0,812	1,229	0,86	0,1110 > P
$Y_{Protsol}$	0,94	0,003	0,970	1,094	0,86	0,0598 > P
Y_{AAL}	0,99	0,128	0,870	1,180	0,98	0,1587 > P

Le tableau 3 illustre l'analyse des variances et les coefficients des modèles mathématiques qui décrivent la variation des activités alpha et bêta amylase, des protéines solubles et des acides aminés libres des différents malts. Les valeurs des R^2 et R^2 ajustés étant proches de l'unité (1) et les tests d'adéquation étant supérieures aux P-value ($P \leq 0,05$) permettent une fois de plus d'affirmer que les modèles sont valides pour décrire significativement les données expérimentales observées [14], [15] (Ross, 1996; Barany *et al*, 1999).

Tableau 3. Coefficient d'impact estimé et contributions aux activités alpha et bêta amylase, des protéines solubles et azotes aminés libres

Facteurs	Activité α amylase			Activité β amylase			Protéines solubles			Acides Aminés Libres		
	Coefficients	P	Contribution (%)	Coefficients	P	Contribution (%)	Coefficients	P	Contribution (%)	Coefficients	P	Contribution (%)
X_1	-1,313	0,005	+16,6*	-2,42	0,049	+12,6*	0,113	0,018	+8,6*	2,027	0,59	2,3ns
X_2	0,601	0,021	+7,6*	-0,712	0,511	-3,7ns	0,089	0,046	+6,7*	1,937	0,606	2,2ns
X_3	-1,198	0,008	-15*	3,506	0,011	+18,2*	-0,149	0,005	-11,3*	18,16	0,001	+20,4*
X_{12}	0,487	0,261	6,2ns	0,538	0,675	2,7ns	-0,14	0,016	+10,6*	-10,952	0,039	-12,3*
X_{13}	-0,985	0,042	-12,5*	0,663	0,607	3,4ns	-0,007	0,817	-0,5ns	15,545	0,009	+17,5*
X_{23}	0,217	0,602	2,7ns	4,291	0,01	+22,3*	-0,035	0,458	-2,6ns	7,642	0,121	+8,6ns
X_{11}	-2,016	0,006	-25,5*	-9,903	0,008	-25,4*	-0,344	0	-26,1*	7,227	0,171	+8,1ns
X_{22}	-0,834	0,016	-10,5*	-0,961	0,519	-4,9*	-0,202	0,004	-15,3*	-4,257	0,399	-4,8ns
X_{33}	0,263	0,186	3,3ns	-1,281	0,397	-6,9*	-0,243	0,001	-18,4*	-21,123	0,003	-23,8*

X_1 : trempage (h), X_2 : germination (h), X_3 : maturation (h), X_{12} : trempage (h) x germination (h), X_{13} : trempage (h) x maturation (h), X_{23} : germination (h) x maturation (h), X_{11} : trempage (h) x trempage (h), X_{22} : germination (h) x germination (h), X_{33} : maturation (h) x maturation (h); ns: contribution non significative du facteur, *: contribution significative du facteur à la réponse ($p < 0,05$)

3.2 CONTRIBUTION DES FACTEURS AUX DIFFERENTES REponses

3.2.1 INFLUENCE DE LA DUREE DE TREMPAGE SUR LES ACTIVITES A ET B AMYLASE ET SUR LES PROTEINES SOLUBLES

Sur les plans linéaire et quadratique, on observe une contribution significative ($p < 0,05$) du trempage sur le comportement de l'alpha amylase, de la bêta amylase et des protéines solubles au cours du maltage (Tableau 3).

La figures 1 (a, b, c) illustre le comportement des différentes réponses sus énumérées durant le trempage.

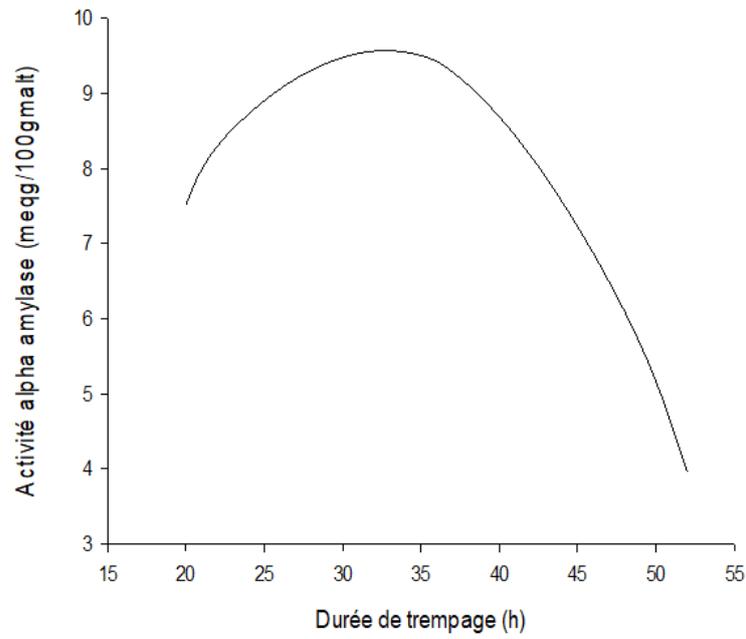


Fig. 1. Influence de la durée de trempage sur l'activité α amylase

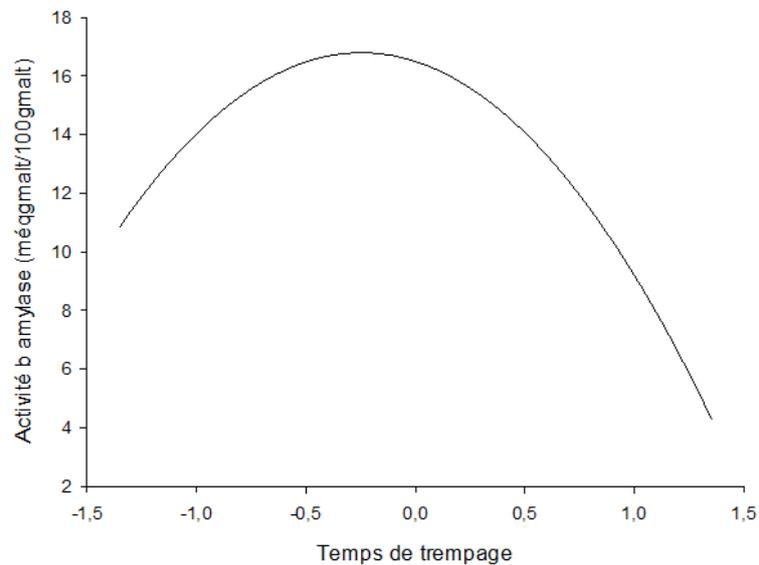


Fig. 2. Influence de la durée de trempage sur l'activité β amylase

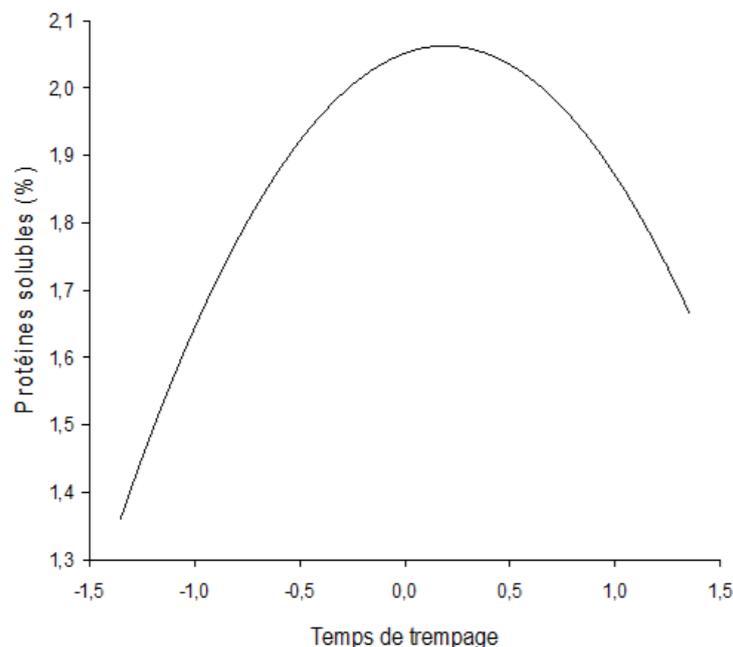


Fig. 3. Influence de la durée de trempage sur la teneur en protéines solubles

Pendant les 35 premières heures de trempage, les activités α et β amylase ainsi que le taux de protéines solubles des grains augmentent pour atteindre leur valeur maximale (figures 1, 2 et 3). Lorsque la durée de trempage excède les 35 heures, on assiste à une diminution des différentes réponses. En effet, au cours du trempage, l'oxygène dissous est rapidement absorbée par la graine et il s'opère une hydratation de l'embryon et de l'albumen suivie d'une synthèse et une diffusion des enzymes vers l'albumen. Le prolongement de ce trempage au-delà de 35 heures sans renouvellement de l'eau de trempage, entraîne une accumulation de CO_2 et une fermentation avec production d'alcool [16]. L'absence d'oxygène va stopper la croissance du germe et la production d'enzyme. L'anaérobiose prolongée endommage et tue finalement la graine [17] - [18]. Par ailleurs, l'augmentation des pertes résultant du lessivage des minéraux essentiels et les activités métaboliques pourraient être un facteur majeur contribuant à la réduction des activités α amylase dans le grain. En effet, le phosphate, substance majeure facilement lessivable est connue pour être un important constituant des enzymes qui influencent la modification de la graine [19]. Par conséquent le lessivage de cette substance pourrait affecter l'activité de certaines enzymes telles que la phosphorylase qui catalyse la phosphorylation des résidus de glucose de la chaîne pour libérer du glucose 1 – phosphate [20]. Cette condition mettra fin à l'apport en acide gibbérellique mettant ainsi un frein à la stimulation de l'activité α amylase. La présence des microorganismes dans l'eau de trempage via les couches externes des grains peut être une cause non négligeable de la baisse de l'activité α amylase après des durées de trempage supérieures à 35h. Ces organismes inhibent la germination en faisant concurrence à l'embryon pour l'oxygène [21]. Une telle interférence conduit souvent à un phénomène connu sous le nom de sensibilité à l'eau au cours duquel les grains sont incapables de germer dans un excès d'eau [22].

3.2.2 INFLUENCE DE LA DUREE DE GERMINATION SUR L'ACTIVITE A AMYLASE ET SUR LES PROTEINES SOLUBLES

L'activité α amylase étant localisée au niveau des racelles, il est logique que celle-ci augmente avec la durée de germination. En effet au cours des 72 premières heures de germination, la synthèse et la sécrétion des amylases et protéases par l'intermédiaire de l'acide gibbérellique contribue à stimuler l'activité de l' α amylase (figure 4) ainsi que la production des protéines nécessaires à la croissance du germe (figure 5). Par contre, passé ce délai de 72 heures, la diminution des protéines solubles est due à l'épuisement des réserves nutritives de la graine [23] et au ralentissement de la germination suite à l'inactivation de la synthèse des protéines au niveau des racines et du germe par rétroaction physiologique du germe. En outre, pendant cette deuxième phase de germination, le grain tend vers le stade de hussard et les activités photosynthétiques et respiratoires sont privilégiées au détriment des activités enzymatiques [24].

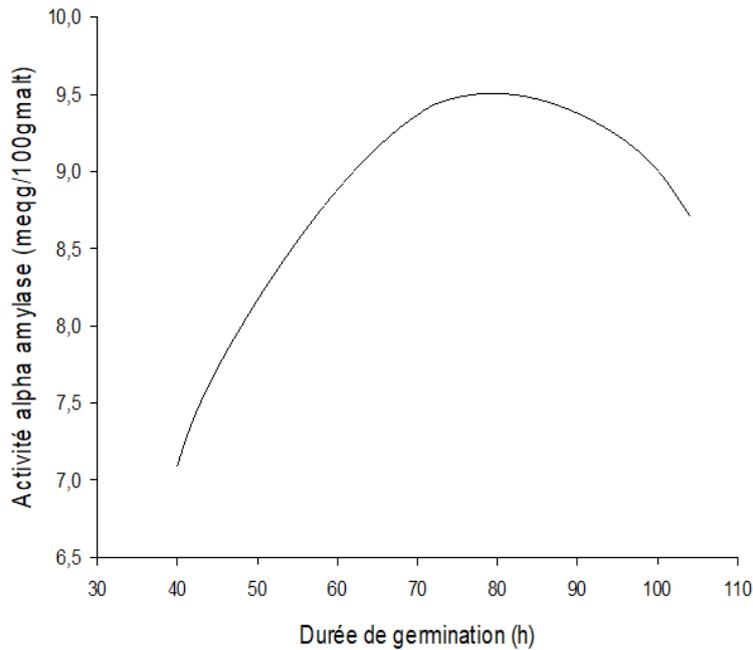


Fig. 4. Influence de la durée de germination sur l'activité α amylase

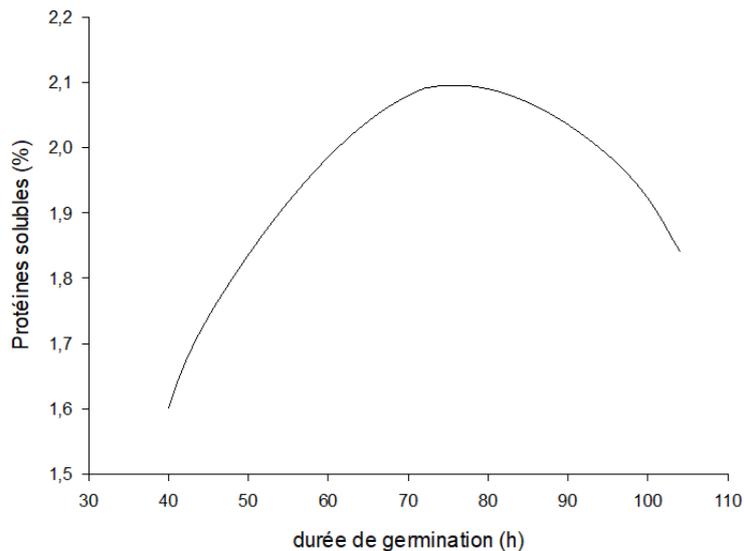


Fig. 5. Influence de la durée de germination sur la teneur en protéines solubles

3.2.3 INFLUENCE DE LA DUREE DE MATURATION SUR LES ACTIVITES A ET B AMYLASE, LES PROTEINES SOLUBLES ET LES ACIDES AMINES LIBRES

La maturation est caractérisée après 72h par une élévation de la température du malt qui passe de 27°C à environ 40°C. Au cours de cette opération, on observe une intensification de l'activité β amylase (figure 6). Par contre la baisse de l'activité α amylase observée serait liée au ralentissement de la croissance des radicelles (figure 7). En effet c'est au niveau de ces radicelles que l'on trouve une quantité importante de l'activité α amylase [25]. Après 50 heures de maturation, on assiste à une baisse de l'activité β amylase suite à une inactivation progressive (figure 7). En effet, suite à l'augmentation de la température au-delà de 38°C associée à une désoxygénation du milieu, les molécules de sucres vont subir une suite de dédoublements pour former de l'aldéhyde acétique, de l'alcool éthylique et des esters qui empoisonnent le grain et diminuent la vitalité du germe. Des résultats similaires ont été observés par [26] - [27] - [28].

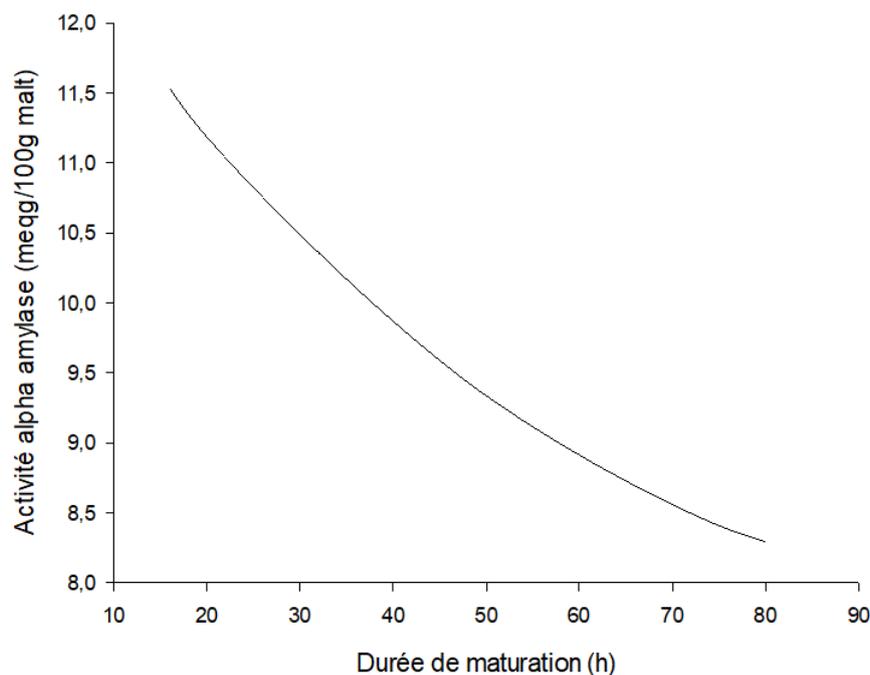


Fig. 6. Influence de la durée de maturation sur l'activité α amylase

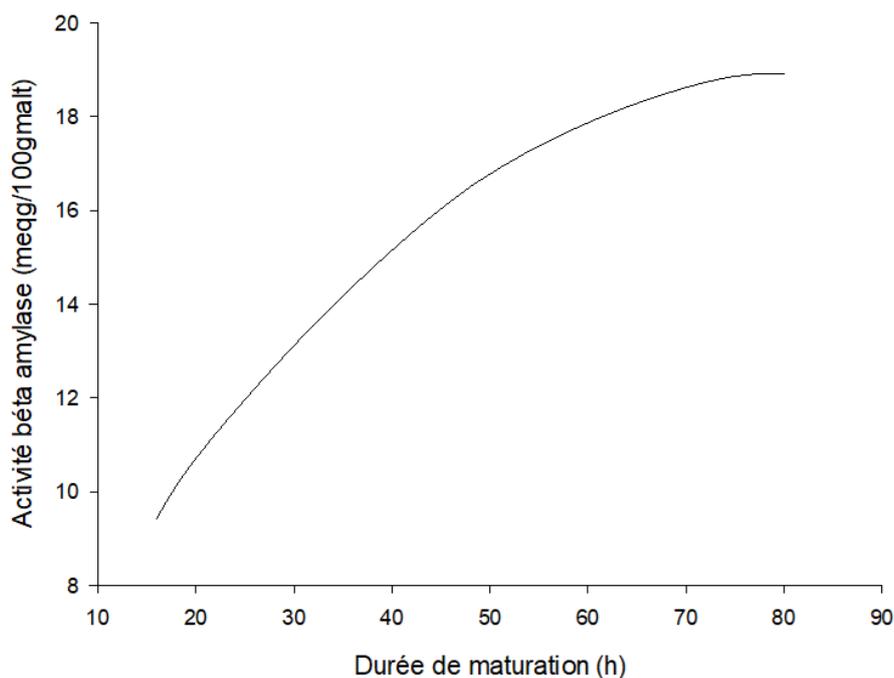


Fig. 7. Influence de la durée de maturation sur l'activité β amylase

La baisse du taux de protéines au cours de cette phase de maturation est liée à l'activité catabolique dominante dans le malt à cette phase du maltage (figure 8). En plus la microflore du malt très abondante va détourner les protéines pour leurs besoins nutritionnels [29]. L'activité catabolique des protéines enrichie le malt en acides aminés libres qui seront par la suite utilisés par la microflore pour les besoins nutritionnels associés à leur croissance (figures 9).

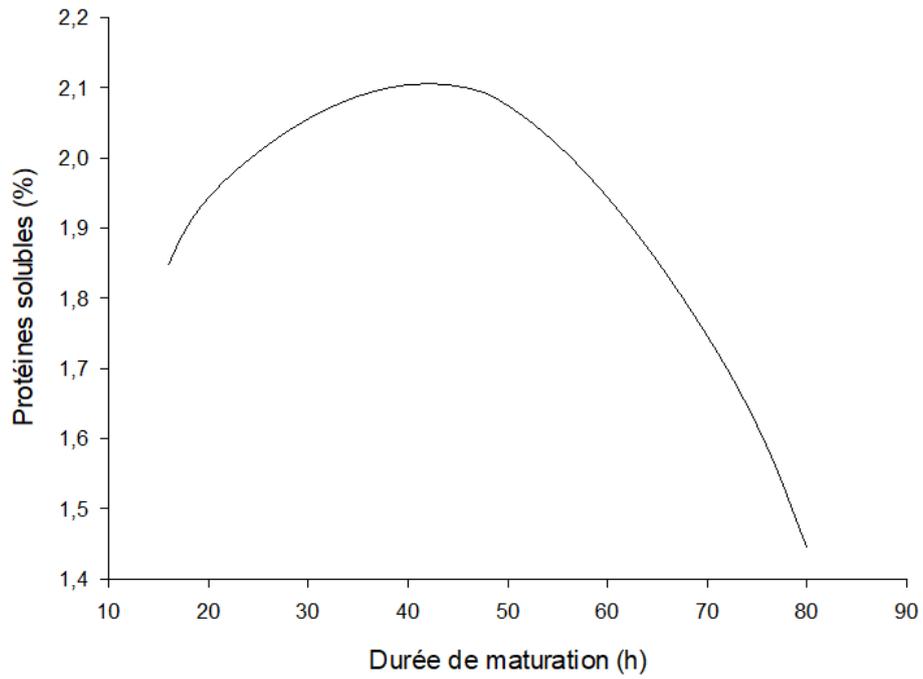


Fig. 8. *Influence de la durée de maturation sur la teneur en protéines solubles*

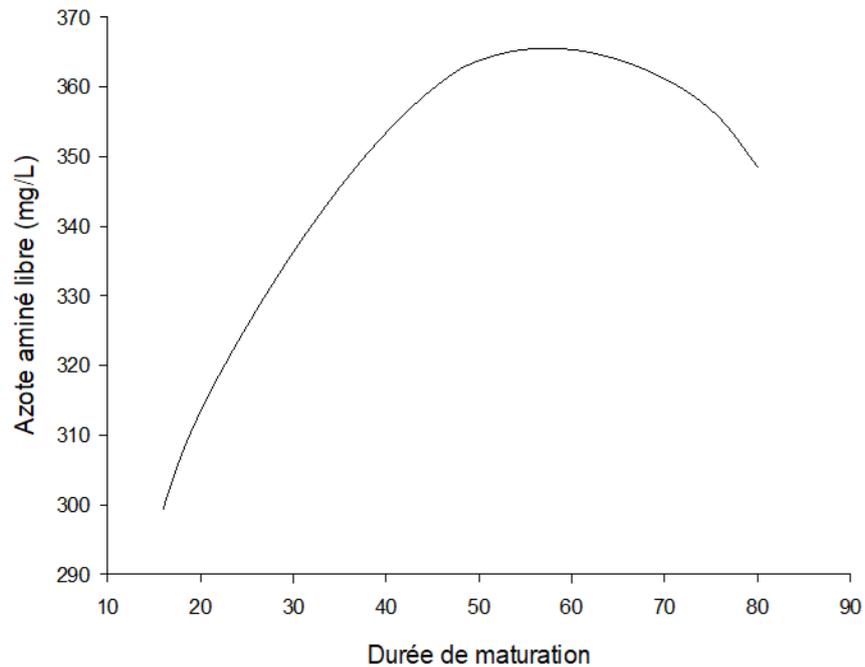


Fig. 9. *Influence de la durée de maturation sur la teneur en azotes aminés libres*

3.2.4 CONTRIBUTION DES INTERACTIONS DES FACTEURS ÉTUDIÉS POUR L'AMÉLIORATION DES REPONSES CHOISIES.

L'activité β amylase, les taux de protéines solubles et acides aminés libres sont significativement et positivement influencés par les interactions Germination x Maturation; Trempage x germination et Trempage x Maturation respectivement.

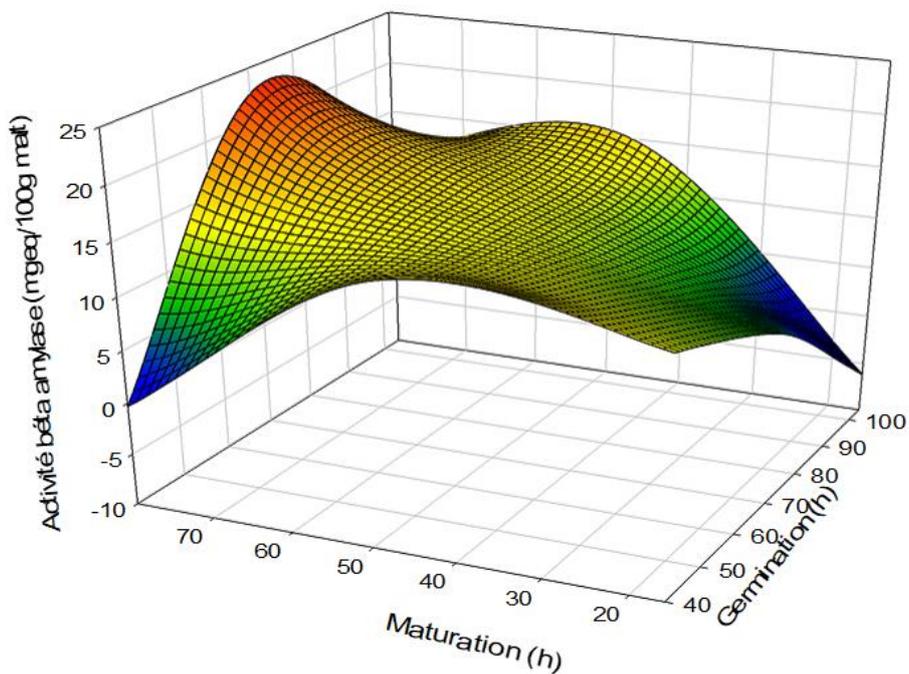


Fig. 10. Influence des facteurs durée de germination x maturation sur l'activité β amylase

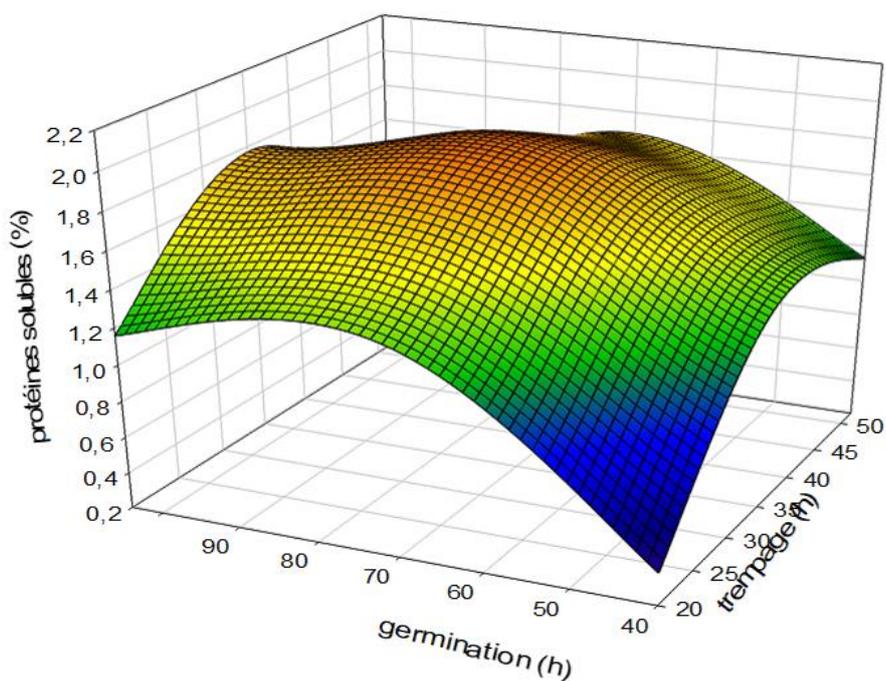


Fig. 11. Influence des facteurs durée de trempage x germination sur la teneur en protéines solubles

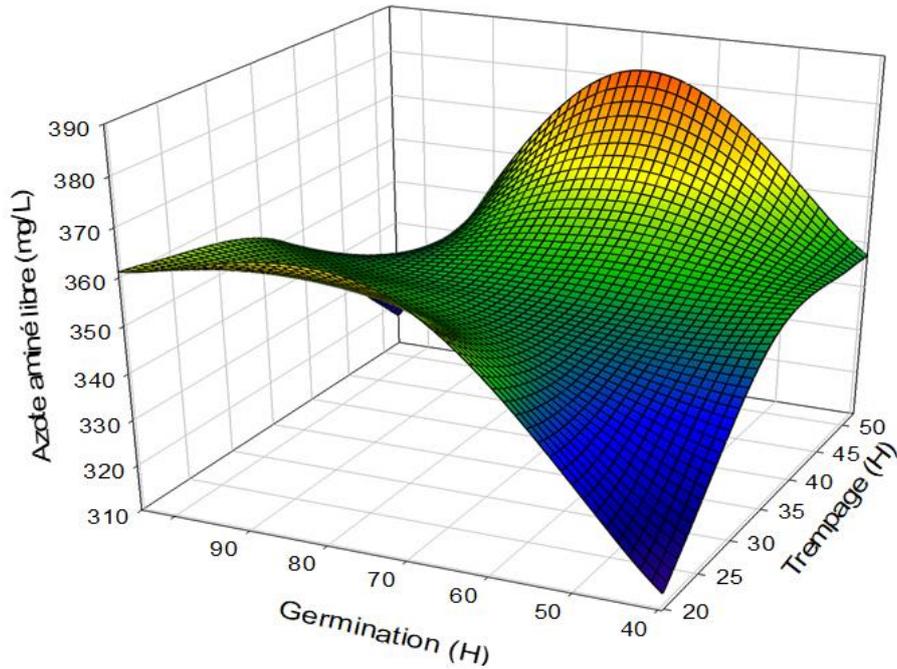


Fig. 12. Influence des facteurs durée de trempage x germination sur la teneur en azotes aminés libres

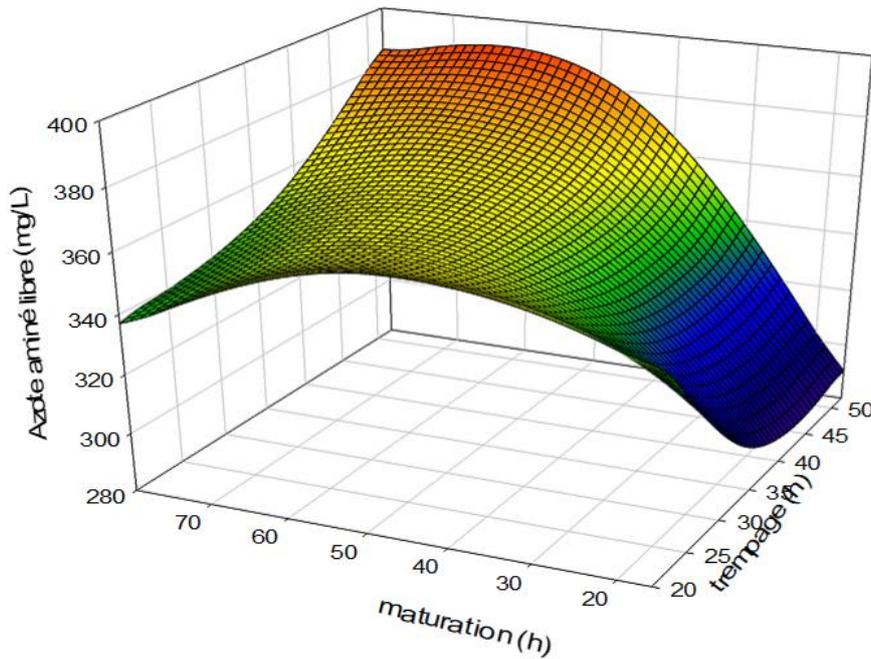


Fig. 13. Influence des facteurs durée de trempage x maturation sur la teneur en azotes aminés libres

L'interaction germination x maturation contribue à hauteur de 22,7% à l'amélioration de l'activité β amylase. De même, la teneur en protéines solubles est à 10,6% améliorée par l'interaction trempage x germination. La quantité quant aux acides aminés libres est augmentée de 12,3% et 17,5% respectivement par les interactions trempage x germination et trempage x maturation.

Il ressort de la figure 10 qu'une germination d'une durée supérieure à 50 heures entraîne une diminution de l'activité β amylase du malt. Par contre, au cours de la maturation, on observe une augmentation de cette activité jusqu'à une durée de 50h. Au fur et à mesure que la maturation se poursuit au-delà de ce temps, l'activité β amylase baisse pour s'annuler après 70 heures de maturation. Les coordonnées de la zone optimale de l'activité β amylase pour une durée de maturation fixée à 48h

sont de 30h – 35h de durée de trempage et 48h – 72h pour la durée de germination. Dans cette zone les coordonnées du point de l'optimum est de 32h, 60h et 48h respectivement de trempage, de germination et de maturation pour une valeur d'activité β amylasique de 16,94 mgeq/malt/100gmalt.

Le trempage et la germination induisent une augmentation de la teneur en protéines solubles respectivement dans les 39 et 80 premières heures de leur application (figure 11). En effet le trempage d'une durée comprise entre 35 et 40 h est suffisant pour permettre au grain d'absorber une quantité d'eau suffisante (35-4%) pour le déclenchement de la production des protéinases et peptidases. Durant cette phase, on observe donc une augmentation des protéines solubles. Par contre au-delà de 40h de trempage, il y a de forte chance que l'humidité du grain soit supérieure à 40%. Dès lors il se mettra à respirer activement et puisque l'eau de trempage n'est pas renouvelée dans cette pratique technique, le germe s'asphyxiera par les produits de la respiration anaérobie (CO₂ et éthanol) et perdra sa vitalité et germera irrégulièrement. Dans ces types de malt, le taux de protéines solubles sera donc de plus en plus bas comme le montre la portion de la courbe après 40h de trempage.

La diminution des protéines solubles des malts après 80 h de germination est due à l'épuisement des réserves nutritives de la graine et un ralentissement de la germination c'est à dire une inactivation de la synthèse des protéines au niveau des racines et du germe par rétroaction physiologique du germe. En outre, après cette durée de germination, le grain tend vers le stade de hussard et les activités photosynthétique et respiratoire sont privilégiées au détriment de l'activité enzymatique [24].

Les coordonnées de la zone optimale de l'activité α amylase pour une durée de maturation fixée à 48h sont: 30h – 45h de durée de trempage et 61h – 92h pour la durée de germination. Dans cette zone les coordonnées du point de l'optimum est de 37h, 77h et 48h respectivement de trempage, de germination et de maturation pour une valeur optimale de protéines solubles de 2,06 %.

Les acides aminés libres sont les sources d'azote pour la nutrition des levures [30] (Bordet, 2022). Les malts issus de notre expérience présentent tous des teneurs élevées. En effet le trempage, la germination et la maturation ont tous trois une influence significative sur la production de les acides aminés libres de nos échantillons (figures 12 et 13). Ceci s'explique par le fait que ces trois facteurs favorisent la production des racines et tigelles qui sont particulièrement riches en acides aminés libres. Les mêmes résultats aussi obtenus par [1] - [27] - [31]

Les coordonnées de la zone optimale de l'azote aminé libre pour une durée de maturation fixée à 48h sont: 46h – 48h de durée de trempage et 48h – 72h pour la durée de germination. Dans cette zone les coordonnées du point de l'optimum est de 48h, 53h et 48h respectivement de trempage, de germination et de maturation pour une valeur optimale de d'azote aminé libre de 375 mg/L. Toutefois il convient de dire que sur tout le domaine d'étude la teneur en azote aminé libre des malts est très acceptable en brasserie [10].

3.3 OPTIMISATION MULTI-REPOSE DES CONDITIONS DE PRODUCTION

L'étape finale de la méthodologie des surfaces de réponses est la détermination des conditions optimales. Au regard de la bonne qualité prévisionnelle des modèles générés dans cette étude, les courbes isoréponses ont été exploitées pour estimer les conditions optimales de production de malt aux qualités technologiques améliorées.

La figure 14 présente la zone optimale (zone hachurée) pour une désirabilité fixée pour des activités α et β amylase, des teneurs en protéines solubles et en azote aminé libre élevées. Les coordonnées de cette zone déterminées graphiquement sont comprises entre (30h, 64h, 48h) et (38h, 86h, 48h), chaque donnée entre parenthèse représentant respectivement les durées de trempage, de germination et de maturation.

L'utilisation de la fonction désirabilité pour l'optimisation a permis de déterminer les coordonnées du point qui correspond à un point optimal de la zone déterminée graphiquement et les coordonnées de ce point sont (36h, 72h, 48h).

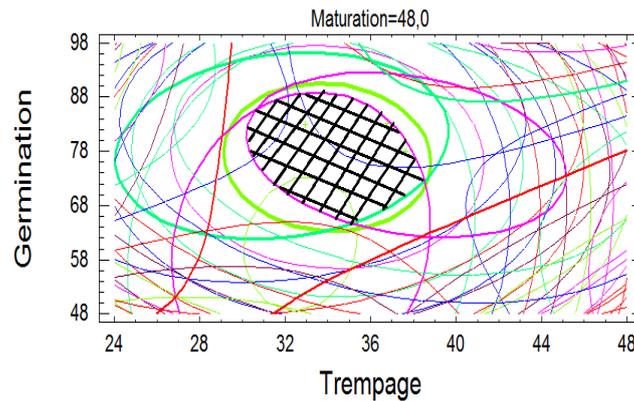


Fig. 14. Zone d'optimisation technologique de maltage

Les conditions optimales de production du malt sont respectées pour tous les points situés dans la zone hachurée. Trempage (30H – 38H) et germination (64H – 84H), maturation 48H. Les coordonnées du point de l'optimum sont de (36H, 72H, 48H)

Afin de vérifier une fois de plus la bonne qualité prévisionnelle des modèles générés, un test de confirmation a été mené en triple dans les conditions de désirabilité prédites. Le tableau 4 présente les valeurs des réponses mesurées et prédites. Ces valeurs ont été comparées et l'analyse statistique (t- test) a montré qu'il n'existe pas une différence significative entre elles au niveau de confiance de 95%. Ce qui confirme le bon ajustement des modèles générés.

Tableau 4. Tableau comparatif des réponses prédites et des réponses expérimentales

Réponses	Valeurs prédites	Valeurs expérimentales	p
Activité α amylase (mgeqm/100gmalt)	9,19	9,34 \pm 1,06	0,495
Activité β amylase (mgéqm/100gmalt)	16,94	15,97 \pm 1,06	0,495
Protéines solubles (%)	2,06	2,05 \pm 0,22	0,951
Azote aminé libre (mg/L)	375	377,67 \pm 6,02	0,523

4 CONCLUSION

La présente étude a permis déterminer les durées optimales de trempage, de germination et de maturation permettant la production d'un malt de qualité technologique pour la production du *bili-bili*. Il ressort que tous les 3 facteurs influencent significativement ($P < 0,05$) la teneur en protéines solubles et l'activité α amylase. La durée de trempage et de maturation ont un effet significatif sur l'activité β amylase. La durée de maturation a un effet significatif sur la teneur en azotes aminés libres. Les modèles mathématiques qui expriment chacune des réponses en fonction des facteurs montrent une bonne qualité prévisionnelle. Pour obtenir un malt aux qualités technologiques appréciables, les conditions de maltage sont les suivant: 36h de trempage, 72h de germination et 48h de maturation dans les conditions de désirabilité optimale des 4 réponses choisies. Dans un contexte de regain d'intérêt pour la valorisation des produits et des systèmes alimentaires locaux, ce travail aura eu le mérite de répondre à quelques-unes des attentes des principaux acteurs de ce système technique. Toutefois la maîtrise des procédés et de la qualité globale du *bili-bili* exigent des études complémentaires à l'instar de la détermination des conditions traditionnelles de brassage optimales.

REFERENCES

- [1] J. Dewar, J.R.N. Taylor, & P. Berjak. Determination of improved steeping conditions for sorghum malting. *J. Cereal Sci.* 26, 129-136, 1997.
- [2] R.C. Agu, G.H. Palmer. Enzymatic breakdown of endosperm proteins of sorghum at different malting temperatures. *J. Inst. Brew.* 102: 415-418, 1996.
- [3] C. Touwang, E. J. Nso & R. Ndjouenkeu. Production Du Bili-Bili, Bière Traditionnelle De Sorgho Du Nord Cameroun: Diversité des procédés de production et qualité des produits. *European Scientific Journal*. Vol.14, No.36 ISSN: 1857 – 7881, 2018.
- [4] C. Touwang, E. J. Nso & R. Ndjouenkeu. Système technique de production du « bili-bili », bière traditionnelle de sorgho: variabilité territoriale des pratiques et perspectives de valorisation. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. ISSN 2028-9324 Vol. 34 No 2 Nov. 2021. 343-353.
- [5] F. Louvet, L. Delplanque. *Les Plans d'Expériences: une approche pragmatique et illustrée*. Expérimentique Orléans, France. 2005.
- [6] A. Koocheki, R. Ali, Taherian, M.A. Seyed, Razavi, B. Aram. Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue and emulsion stability of mucilage extracted from lepidium perfoliatum seeds *Foods Hydrocolloids*, 23, 2369-2379. (2009).
- [7] P. Bernfeld., 1955. «Amylases β and α . In: *Methods in enzymology 1.*» SP Colswick, NO Kaplan. Eds. Academic Presse inc, New York, pp. 149-154, (1955).
- [8] P. Giamarchi. Dosage de l'activité alpha et bêta-amylasique. In *Methodes d'Analyse*, Herzele P (ed). Laboratoire de Nutrition: Brazaville-Congo; 1-8. (1992).
- [9] M.B. Devani, J.C. Shhioshoo, S.A. Sha and B.N. Suhagia. Spectrophotometrical method for micro determination of nitrogen in kjeldahl digest. *J. Ass. Of Anal. Chem.* 72 (6): 953-956, 1989.
- [10] EBC, European Brewery convention. Nürnberg: Fachverlag Hans Carl, (1998).
- [11] D. Bas, I.H. Boyac. Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *J. Food Eng.*, 78: 836-845, 2007.
- [12] Jogelar et May, 1987,: A.M. Joglekar, A.T. May, Product excellence through design of experiments. *Cereals foods world* 32, 857 – 868, 1987.
- [13] P. Dalgaard & L.V. Jorgensen. Predicted and observed growth of listeria monocytogenes in sea food challenge tests and in naturally contaminated cold smoked salmon. *Int J. food microbiol.* 40, 105-115, 1998.
- [14] T. Ross. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *J Appl Bacteriol* 81: 501–508, 1996.
- [15] J. Baranyi, C. Pin, T. Ross. Validating and comparing predictive models. *Int. J. Food Microbiol.*, 48: 159-166, 1999.
- [16] H.Y. Cho, E. Loreti, M.C. Shih, P. Perata. Energy and sugar signaling during hypoxia. *New Phytol.* 2021; 229: 57–63, 2021.doi: 10.1111/nph.16326.
- [17] D.E. Briggs, J.S. Hough, R. Stevens & T.W. Young. *Malting and brewing science*. Vol. 1. London: Chapman & Hall, 1981.
- [18] F. Corbinau, 2022. *Oxygen, a key signalling factor in the control of seed germination and dormancy*. *Seed Science Research*, 2022.
- [19] R. Bam, S. Ofori, E. Asiedu. Germination, vigueur et activité déshydrogénase des grains de riz (*Oryza sativum* L.) naturellement vieilles et trempées dans des sels de potassium et de phosphore. *Journal asiatique de sciences végétales*. 5 (6). DOI: 10.3923/ajps, 948-955, 2006.
- [20] D.E. Briggs. *Malts and malling*, Blackie Academie & professional, 7986 pages, 1998.
- [21] A. Laitila, E. Kotaviita, P. Peltola, S. Home, A. Wilhelmson. Indigenous microbial community of barley greatly influences grain germination and malt quality. *Journal of the Institute of Brewing* 113, 9-20, 2007.
- [22] G.S. Gilbert. Seed disinfection practices to control seed borne fungi and bacteria in home production of sprouts. 2003.
- [23] M. J. Gnanwa, J. B. Fagbohoun, K. C. Ya, S. H. Blei, G. A. M. Beugre, L P. Kouame, Effet de la germination sur les composés biochimiques, minéraux, activités enzymatiques et digestibilité des graines d'arachides (*arachis hypogaea* L.) de Daloa (cote d'ivoire) *agronomie africaine* sp. 33 (2): 251 – 262, 2021.
- [24] H. Robert. Etude du maltage artisanal de l'orge brassicole pour son développement en circuit court en Wallonie. URI/URL: <http://hdl.handle.net/2268.2/3013>, 2017.
- [25] E. J. Nso, P.E. Ajebesone, C.M. Mbofung & G. H. Palmer. Properties of three sorghum cultivars used for the production of bili-bili beverage in northern Cameroon. *J. Inst. Brew.*, 109 (3), 245-250, 2003.
- [26] J. Dewar, J.R.N. Taylor, & P Berjak. Determination of improved steeping conditions for sorghum malting. *J. Cereal Sci.* 26, 129-136, 1997.
- [27] P. Morrall, H.K. Boyd, J.R.N. Taylor & W.H. Van Der-Walt Effect of germination time, temperature and moisture on malting of sorghum (*Sorghum bicolor*). *J. Inst. Brew*, 92, 439 - 445. 1986.

- [28] L.A.M. Pelembe, J. Dewar, J.R.N. Taylor. Effect of Germination Moisture and Time on Pearl Millet Malt Quality – With Respect to Its Opaque and Lager Beer Brewing Potential. 2004.
- [29] W.H. Coulibaly, K.F. N’guessan, I.Coulibaly, K.M. Djè, P. Thonart. Les levures et les bactéries lactiques impliquées dans les bières traditionnelles à base de sorgho produites en Afrique subsaharienne (synthèse bibliographique). *Biotechnology. Agronomie Société Environnement*, 18 (2), 209-219, 2014.
- [30] F. Bordet. Interactome entre micro-organismes au cours la fermentation alcoolique des vins. *Biochimie [q-bio.BM]*. Université Bourgogne Franche-Comté, 2022. Français. NNT: 2022UBFCK028. tel-04085287.
- [31] M.J.R. Nout & Davis, B.J., Malting characteristics of finger millet, sorghum and barley. *Journal of the Institute of Brewing*. 88, 157–163, 1982.